

1 / 17

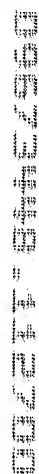


Figure 2 Upstream Region of Differential Methylation in Prostate Cancer

-42
 ATAAAAATAAA ATAAAAATAAA ATAAAGCAAT TTCCTTTCCT CTAAGCGGCC TCCACCCCTC TCCCTGCCC TGTGAAGCGG -355
 ATAAAAATAAA ATAAAAATAAA ATAAAGTAAT TTTTTCCTT TTAAGTGGT TTTATTTTTT TTTTTCCTT TGTGAAGTGG B-U
 ATAAAAATAAA ATAAAAATAAA ATAAAGTAAT TTTTTCCTT TTAAGCGGT TTTATTTTTT TTTTTCCTT TGTGAAGCGG B-M
 -43
 GTA-GC (p)
 -38-37 -36-35-34 -33 -32
 GTGTGCAAGC TCCGGGATCG CAGCGGTCTT AGGGAATTC CCCCAGCGAT GTCCCGGCGC GCCAGTTCGC TCGGCACACT -275
 GTGTGTAAGT TTTGGGATG TAGTGGTTTT AGGGAATTTT TTTTGTGAT GTTTTGGTGT GTTAGTTTGT TGTGTATATT B-U
 GTGTGTAAGT TTCGGGATCG TAGCGGTTTT AGGGAATTTT TTTTCGCGAT GTTTCGGCGC GTTAGTTCGT TCGGTATATT B-M
 CGPS-5 YGGTTTT AGGGAATTTT TTTTCGC>CGPS-6 YGGYGY GTTAGTTCGT TGYGTATATT
 CGPS-11 GGAATTTT TTTTCGCGAT GTTTCGGCGC
 -29
 -31 -30
 TCGCTGCGGT CCTCTTCCTG CTGTCTGTTT ACTCCCTAGG CCCCCTGGG GACCTGGGAA AGAGGGAAG GCTTCCCCGG -195
 TTTTGTGTTG TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT B-U
 TCGTTGCGGT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT TTTTGTGTTT B-M
 TC>
 -27-26-25 -24
 CCAGCTGCGC GCGACTCCG GGGACTCCAG GCGCCCCCTC TCGCGCCGAC GCGCGGGTG CAGCGGCCG CCGGGCTGGG -115
 TTAGTTGTTG GGTGATTTG GGAATTTAG GGTGTTTTT TGTGTTTAT GTTGGGTG TAGTGGTGT TGGGGTTGG B-U
 TTAGTTGCGC GCGATTTTC GGAATTTAG GCGTTTTTT TCGGTTCGAC GTTCGGGTG TAGCGGTCTG CCGGGTTGG B-M
 <GCG CCRCTAAARC CCCTAAATC CCRC CGPS-7 < GCTG CAARCCAC ATCRCCARCA RCCCCA CGPS-8
 <G CCGCTAAGC CCCTAAATC CCRC AAAA CGPS-12 <GCCARCA GCCCAACCC

3/17

Figure 2 (Continued)

-15 -14 -13-12 -11 -10 -9 -8 -7 -6 -5
 GCCGGCGGA GTCCGCGGA CCTCCAGAA GAGCGCGCGG CGCCGTGACT CAGCACTGGG GCGGAGCGGG GCGGAGCCAC -35
 GTTGGTGGGA GTTGTGGGA TTTTGTAGAA GAGTGGTTGG TGTGTGATT TAGTATTGGG GTGGAGTGGG GTGGGATTAT B-U
 GTCGGCGGGA GTTCGCGGA TTTTGTAGAA GAGCGGTCCG CGTCGTGATT TAGTATTGGG GCGGAGCGGG GCGGAGATTAT B-M

<GCCGCCCT CAARCRCCCT AAAAATCTT CTC CGPS-9
 CAGCCRCCT CAA CGPS-13

-4 -3 -2 -1 > 1 2 3 4 5 6 7
 CCTTATAAGG CTCGAGGCC GCGAGGCCCTT CGCTGGAGTT TCGCCGCCGC AGTCTTCGCC ACCAGTGAGT ACGCGCGGCC +46
 TTTTATAAGG TTTGGAGGT GTGAGGTTTT GTTGGAGTT TGTGTGTTGT AGTTTTTGT ATTAGTGAGT ATGTGTGTT B-U
 TTTTATAAGG TTCGAGGTC GCGAGGTTTT CGTTGGAGTT TCGTCGTCGT AGTTTTTCGT ATTAGTGAGT ACGCGCGGTT B-M
 CGPS-1 C GCGAGGTTTT CGTTGGAGTT TCGTCGTC> CGPS-2 CGTT ATTAGTGAGT ACGCGCGGTT

8 9 10
 CGCGTCCCG GGGATGGGC TCAGAGCTCC CAGCATGGGG CCAA +90
 TGTGTTTTG GGGATGGGT TTAGAGTTTT TAGTAIGGGG TTAA B-U
 CGCGTTTTCG GGGATGGGT TTAGAGTTTT TAGTAIGGGG TTAA B-M

C>

Figure 3A Methylation Status of Individual Sites in the GST-Pi Gene

site	LN	Du	PC3	PC3 M	PC3 MM	2AN	BN CN	2AC	BC	CC	DC	XC	WC	Pr
								4+4	3+3	2+3	2+2	3+4	3+3	
-28	+++	.	+	++	++	.	.	.	++	+	++	++++	++	.
-27	+++	.	+	++	++	.	.	.	+	+	++	++++	+	.
-26	+++	.	+	++	++	.	.	.	+	+	++	++++	++	.
-25	+++	.	+	++	++	.	.	.	+	+	++	++++	++	.
-24	+++	.	+	++	++	.	.	.	+	+	++	++++	++	.
-23	+++	.	+	+	+	.	.	.	++	+	++	.	+++	.
-22	+++	.	++	+	+	.	.	.	++	+	++	.	+++	.
-21	+++	.	+	++	++	+++	+++	++	.
-20	+++	++	++	++	.	+	.
-19	+++	.	++	+	++	++	+	+	.
-18	+++	.	++	+	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-17	+++	.	+	+	++	.	.	.	++	++	++	+++	+++	.
-16	+++	.	++	+	++	.	.	.	+	++	+++	+++	+++	.
-15	+++	.	+	+	++	.	.	.	++	++	+++	+++	+++	.
-14	+++	.	.	+	+	.	.	.	+	++	++	.	+	.
-13	+++	.	+	+	++	.	.	.	B	B	B	++	+	.
-12	+++	.	+	++	++	.	.	.	B	B	B	+++	+	.
-11	+++	.	++	++	++	.	.	.	+	++	++	+++	++	.
-10	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-9	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-8	+++	.	++	+	++	.	.	.	++	+	++	+++	++	.
-7	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-6	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-5	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-4	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-3	+++	.	++	++	++	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-2	+++	.	++	++	B	.	.	.	++	++	++	+++	++	.
-1	+++	.	++	+	B	.	.	.	++	++	++	+++	++	.

Figure 3A (cont'd)

1	++++	.	++	B	B	++	++	++++	+++	+
2	++++	.	++	B	B	++	++	++++	+++	.
3	++++	.	++	B	B	++	++	++++	+++	.
4	++++	.	++	B	B	++	++	++++	+++	.
5	++++	.	+++	B	B	B	++	++++	+++	.
6	++++	.	+++	B	B	B	++	++++	+++	.
7	++++	.	+++	B	B	B	++	++++	+++	.
8	++++	.	++	B	B	B	++	++++	+++	.
9	++++	.	++	B	B	B	++	++++	+++	.
10	++++	.	++	B	B	B	++	++++	+++	.
11														
12														
13	++++		+	+++	+++			.	.	+++	+++			.
14	++++		+	+++	+++			.	.	+++	+++			.
15	++++		+	+++	+++			.	.	+++	+++			.
16	++++		+	+++	+++			.	.	+++	+++			.
17	++++		+	++	++			.	.	+++	+++			.
18	++++		+	++	.			.	.	+++	+++			.
19	++++		+	+	++			.	.	++	++			.
20	++++		+	+	+			.	.	+++	+++			.
21	++++		B	+	+			.	.	+++	+++			.
22	++++		B	+	.			.	.	++	++			.
23	++++		B	+	.			.	.	+++	+++			.
24	+++		B	++	++			.
25	.		B	+	.			.	.	++	++			.
26	++++		B	++	B			.	.	+++	+++			.
27	++++		B	+++	B			.	.	+++	+++			.
28	++++		B	+++	B			.	.	+++	+++			.
29	++++		B	+++	B			.	.	B	+++			.
30	++++		B	B	B			.	.	+++	B			.
31	++++		B	B	B			.	.	+++	B			.
32	B		B	B	B			.	.	+++	B			.
33	++++		B	+++	B			.	.	+++	+++			.

002211 04402959

7/17

Figure 3B Methylation Status of Individual Sites in the GST-Pi Gene

Site	NormalP rostate (15)	PC-3 (10)	LNCaP (7)	BC (9)	CC (4)	DC (10)	Blood (13)	Brain (6)	Spleen (6)	Liver (6)	Smooth muscle (6)	Lung (5)	Bone marrow (5)	Pancreas (6)	Heart (3)
-56	+++	++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
-55	++++	+	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++
-54	++	.	+++	++	+	+++	+++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	+++
-53	+++	.	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
-52	++	+	+++	+	.	++	+++	+	++	+	+	+	++	++	+++
-51	+	.	+++	++	++	+++	+++	++	++	.	+++	+++	+++	++	+++
-50	++	++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	++	+++
-49	++	+	+++	+	B	+++	+++	++	++	+	.	+++	+++	++	.
-48	+	+++	+++	++	++	+++	+	++	++	.	.	++	.	.	.
-47	+	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+	.	+++	+++	+	+
-46	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	++	++	+
-45	++	.	+++	+	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-44	++	.	+++	++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-43	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-42	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-41	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-40	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-39	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-38	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-37	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-36	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-35	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-34	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-33	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-32	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-31	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-30	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-28	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-27	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-26	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-25	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++
-24	++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	.	+++	+++	++	++

-23
-22
-21
-20
-19
-18
-17
-16
-15
-14
-13
-12
-11
-10
SUBSTITUTE SHEET (Rule 26)
CROVA D
8
9
10

FIGURE 3B. (cont'd)

[illegible]

9/17

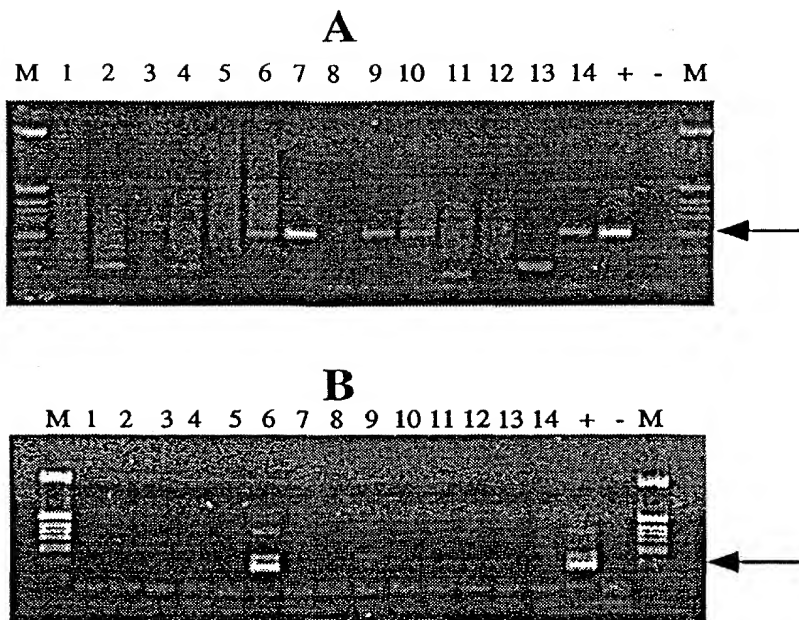


FIGURE 4A

10/17

Sample Number

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Mn	c	n	c	n	c	n	c	n	c	n	c	+ -



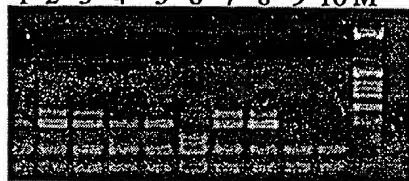
Sample	Tissue	Gleason	% Methylation Non CG rich PCR
1	Normal	N/A	-
	Cancer	3+3	++++
2	Normal	N/A	-
	Cancer	3+5	++
3	Normal	N/A	-
	Cancer	3+3	++
4	Normal	N/A	-
	Cancer	3+5	-
5	Normal	N/A	-
	Cancer	2+2	++
6	Normal	N/A	-
	Cancer	3+3	-
7	Normal	N/A	-
	Cancer	2+3	++
8	Normal	N/A	-
	Cancer	3+3	++
9	Normal	N/A	-
	Cancer	2+3	++++
10	Normal	N/A	-
	Cancer	?	++

FIGURE 4B

11/17

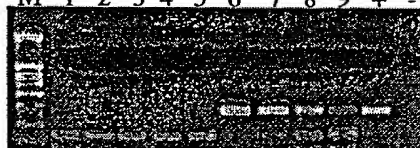
A

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 M



B

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 + -



C

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

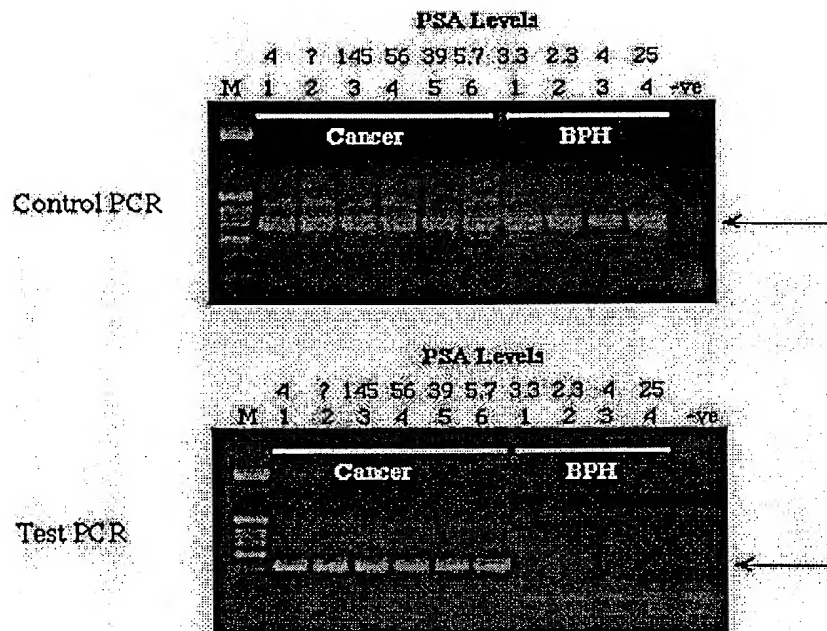


FIGURE 4C

002277 09/673448

13/17

Figure 6



14/17

Figure 7A

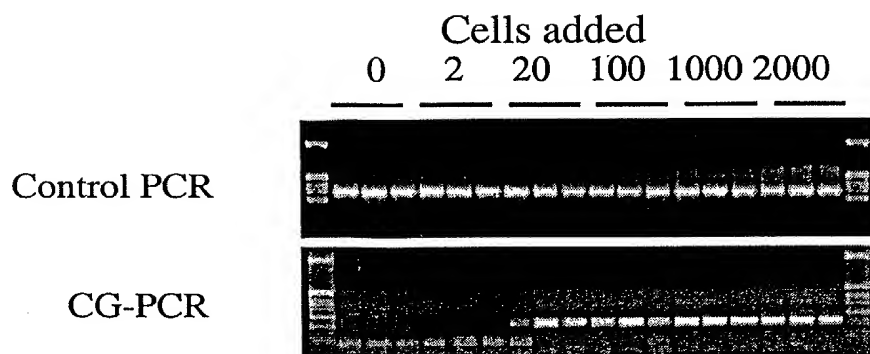
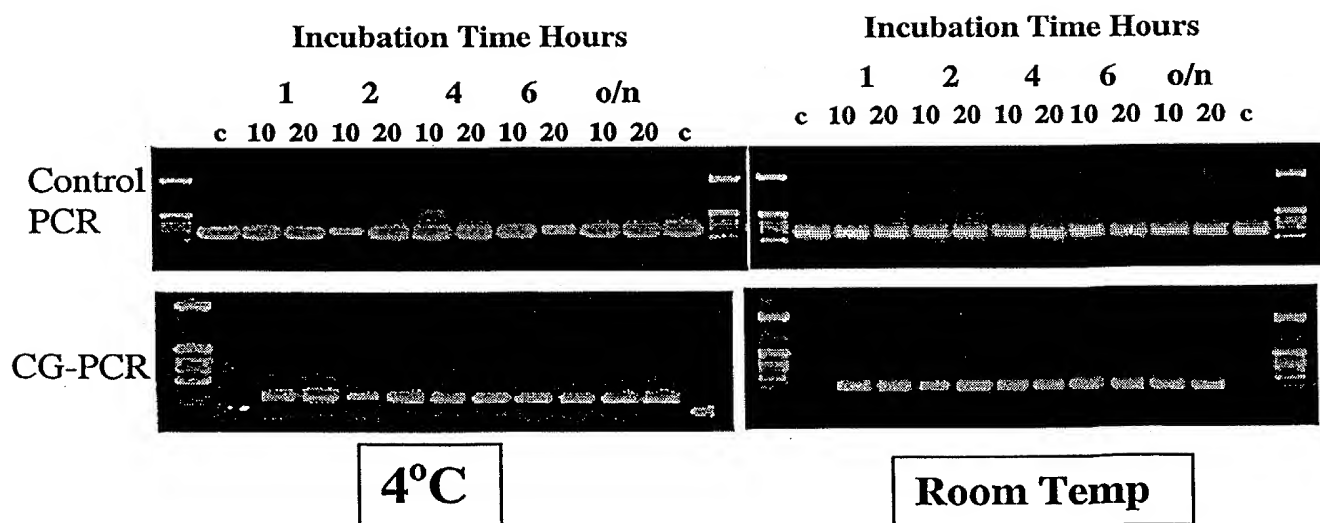
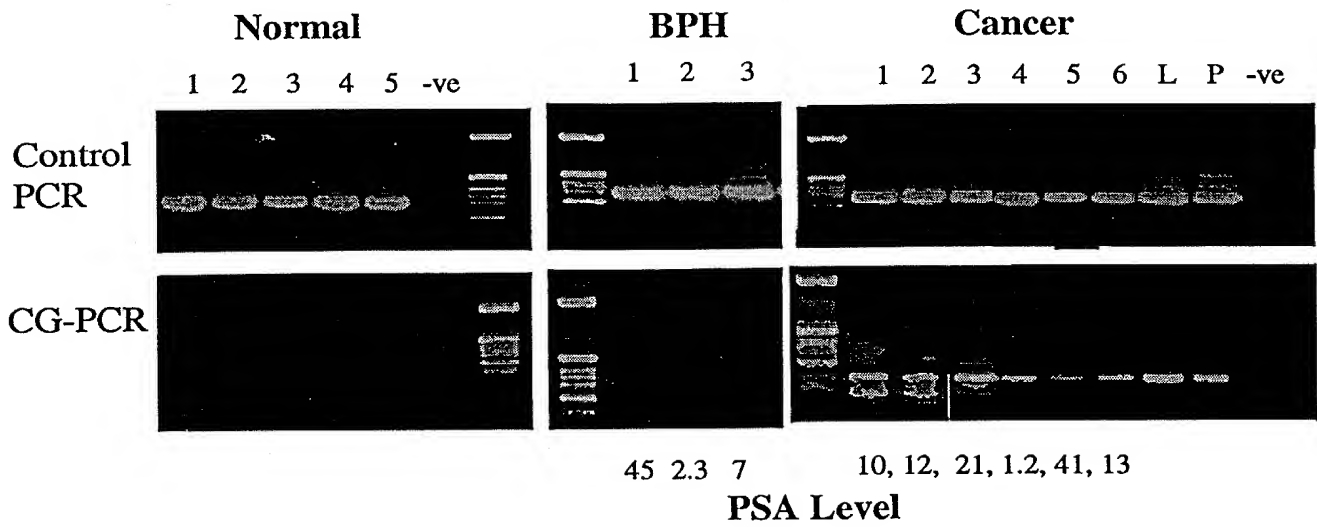


Figure 7B



15/17

Figure 8



16/17

Figure 9

Liver Cancer Tissue DNA extracts

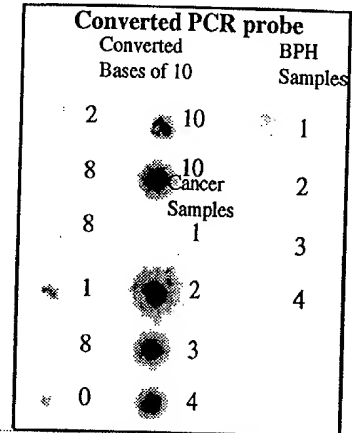
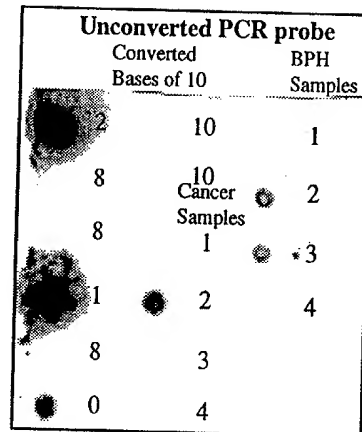


09/673448-42700

17/17

Figure 10

Test Oligo's



Control Oligo

